

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00870

研究課題名(和文) 過食行動がまねく摂食抑制系の機能異常に関する神経科学的研究

研究課題名(英文) Blunted feeding inhibitory function in mice showing binge-like sugar overconsumption

研究代表者

八十島 安伸 (Yasoshima, Yasunobu)

大阪大学・人間科学研究科・教授

研究者番号：00273566

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：食物過剰摂取行動の背景となる脳・生理基盤を探索するために、マウスにおける高濃度ショ糖溶液の過剰摂取行動モデルにおいて摂食抑制系の機能変化を調べた。まず、消化管ホルモンの一つであるペプチドYYの分泌をELISA法にて調べたところ、ショ糖過剰摂取を経験したマウス群では、未経験の対照マウス群に比べて分泌量が有意に低下していた。次に、消化管へのショ糖刺激に対する脳幹での神経活動性を調べたところ、孤束核や結合腕傍核でのc-fosタンパク免疫陽性細胞数は、過剰摂取群では他の対照群に比べて有意に低下していた。以上から、過剰摂取行動には複数の摂食抑制系機能の低下が介在することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Overconsumption beyond multiple physiological control is an issue to produce prevalence of obesity and metabolic diseases. To explore its neurobiological mechanisms, we examined changes in feeding inhibitory mechanisms in mice showing binge-like sugar overconsumption. We found circulating concentration of a gut hormone, peptide YY (PYY), secreted after an intra-gastric (IG) infusion of sucrose significantly decreased in mice with bingeing in comparison to that in control animals. In addition, c-fos expression in the brainstem in response to the IG stimulation or peripheral PYY administration were also reduced in the bingeing group. Peripheral administration of PYY, cholecystinin, or glucagon-like peptide-1 suppressed the expression of the sugar bingeing. Our results suggest that sugar overconsumption is partly due to blunted feeding inhibition based on dysfunction of gut hormone secretion and gut-brain interaction via hormonal and neural signals during postingestive processes.

研究分野：行動神経科学

キーワード：過剰摂取 ショ糖 消化管ホルモン ペプチドYY 脳腸相関 内臓感覚 脳幹 c-fos

1. 研究開始当初の背景

食行動は生活や生命維持に必要な不可欠なものであるが、現在の食の問題は生活習慣病の一因ともなっている。摂食行動は複数の生理的機序によって調節を受けているにも関わらず、現代社会ではカロリー過剰摂取とそれに基因する肥満が増加している。過食を呈する原因はヒトでは個人毎に多種多様ではあるが、それらの食行動異常を維持し、発現させる脳・生理基盤には個人間での共通基盤があると推定される。そこで、その脳・生理基盤について行動神経科学的に解析するために、我々は、マウスにおける高濃度ショ糖溶液の過剰摂取行動の動物モデル系を作出した (Yasoshima and Shimura, 2015)。このマウス過剰摂取行動モデルでは、血糖上昇や事前給餌によって、ショ糖摂取量は抑制されないことから、ショ糖への味覚嗜好性やその報酬を希求する行動モデルであると示唆された。すなわち、脳内における摂取動機づけ系の機能亢進がその行動に関わっていると示唆される。

一方で、過剰摂取行動は、通常の摂食行動において生じるはずの摂食後での摂取抑制系が十分に機能していないことで生じる可能性がある。換言すれば、摂食行動へのブレーキ様の生理機能に異常が生じている可能性が考えられる。実際に、神経性大食症を呈している患者では、テスト食を摂取した場合でも、消化管ホルモンの一つであるペプチド YY が血漿中において増大しないことが報告されている。すなわち、過食を呈するヒトでは、食物刺激によって消化管が刺激されたとしても、腸管からペプチド YY などの消化管ホルモンが分泌されにくくなってしまっていることが示唆される。

ところで、摂食が健常に制御されている状態では、その開始と停止がさまざまな生理的もしくは心理的な機序によって調節されていることになる。特に、停止には、食物の報酬価値の低下やその味への飽きが考えられる。つまり、摂食の進行には味覚報酬性の低下が伴うと考えられる。この低下は、摂食抑制系の生理的機序が生じさせている可能性がある。先行研究では、消化管ホルモンであるコレシストキニンをラットに事前投与すると、甘味嗜好性が低下することが行動学的な結果から示唆されている。我々の過剰摂取行動モデルが味覚嗜好性に基づく行動でもあることから、消化管ホルモンが味覚嗜好性を低下させることで、その行動を抑制する可能性があると考えられる。

2. 研究の目的

以上から、本研究では、さまざまな摂食抑制系の機能がマウス過剰摂取行動モデルにおいて、どのように変化しているのかについて調べることを目的とした。具体的には、先ず、ヒトでの症例と同様に、我々のマウス過剰摂取モデルにおいても、消化管刺激に由来

する消化管ホルモンの分泌が低下しているのかどうかを調べた。次に、消化管をショ糖にて刺激した場合と、ペプチド YY を末梢投与した場合において、それぞれ脳幹において内臓感覚を受容する神経核でのニューロン応答がショ糖過剰摂取の経験の有無によって異なるのかどうかを *c-fos* 免疫染色をマーカーとして調べることにした。最後に、ショ糖過剰摂取行動が味覚嗜好性に基づいて生じるように条件設定した後 (Yasoshima and Shimura, 2015) その摂取行動が消化管ホルモンの末梢投与によって抑制されるのかどうかを行動学的に調べた。

3. 研究の方法

全ての実験には、C57BL/6J 雄性マウス (8-9 週齢) を用いた。マウスは個別飼育され、ショ糖過剰摂取を生じさせる制限給餌下でのショ糖間歇呈示訓練以外の場合には、自由給水・自由給餌下で飼育された。その間歇呈示訓練においては 0.5 M ショ糖溶液と通常の固形飼料を制限給餌下にて一定時間 (4 時間) のみ呈示した。この訓練を受けたマウス群を過剰摂取群と呼ぶこととする。一方、制限給餌のみを受けた群を制限給餌群、給餌スケジュールを操作されていない群を無処置群と呼ぶ。また、自由給餌下において、ショ糖溶液のみを間歇呈示された群を自由給餌ショ糖呈示群と呼ぶ。

先ず、過剰摂取訓練、制限給餌、無処置のそれぞれの群において、マウスの胃内に直接ショ糖溶液を投与した。その 60 分後に全血採血し、その血液サンプルを遠心分離後、通法に従って、ペプチド YY 用 ELISA キット (矢内原研究所) を用いて、血中ホルモンを計測した。

過剰摂取群、制限給餌群、ショ糖呈示群のそれぞれのマウスにショ糖胃内投与を行った後、90 分後に通法に従って脳を固定し、凍結脳切片を作製した。通法に従って、*c-fos* 免疫組織化学的染色を行った後、延髄の孤束核や結合腕傍核における内臓感覚領域での *c-fos* 免疫陽性ニューロン数を計数した。また、別群のマウス群において、ペプチド YY を腹腔内投与した後、同様の手法で孤束核や結合腕傍核の *c-fos* 免疫染陽性細胞数を群間比較した。

過剰摂取行動の表出への消化管ホルモンの作用を調べるために、マウスに制限給餌下でのショ糖間歇呈示訓練 (Yasoshima and Shimura, 2015) を施した。マウスを 7 群に分け、生理食塩水投与群、ペプチド YY 低濃度投与群、ペプチド YY 中間濃度投与群、コレシストキニン低濃度投与群、コレシストキニン高濃度群、グルカゴン様ペプチド-1 低濃度投与群、そしてグルカゴン様ペプチド-1 高濃度投与群とした。上記の間歇呈示訓練を 10 日間行った後、給餌下でショ糖溶液を呈示したが、ショ糖呈示の前にそれぞれの消化管ホルモンもしくは生理食塩水を腹腔内投与し

た（各個体 200 μ L 量）。各ホルモンがショ糖への味覚嫌悪学習を生じさせるのかどうかを確かめるために、別のマウス群を用意し、4 群に分け、飲水訓練の後、5 mM サッカリン溶液を呈示した。それぞれの群に、塩化リチウム(0.15 M, 2%)、最大濃度のペプチド YY、コレシストキニン、そしてグルカゴン様ペプチド-1 を腹腔内投与し、味覚嫌悪条件づけを行った。この条件づけ操作をもう一度行い、その翌日、サッカリン溶液のみを呈示し、その摂取量を群間比較した。

4. 研究成果

ELISA 実験

過剰摂取群では、対照群および制限給餌群と比べて、血中ペプチド YY 量は有意に低かった。

以上の結果から、ショ糖を過剰摂取するように訓練されたマウスでは、消化管を栄養物（ショ糖）によって刺激されたときのペプチド YY 分泌量が少なくなることが示唆された。これは、ヒトの神経性大食症と同様の傾向である。

しかしながら、その分泌低下を引き起こす神経機序については未定である。さらに、他の消化管ホルモン（コレシストキニン、グルカゴン様ペプチド-1 など）の分泌が変化するののかも不明である。さらに、過剰摂取行動は、約一か月程度の自由給餌条件での飼育にて消失するが、ペプチド YY の分泌低下がどの程度の時間枠で維持されるのかも不明である。以上の点は今後の研究ポイントである。

脳幹 Fos 反応実験

ショ糖胃内投与への孤束核および結合腕傍核での *c-fos* 陽性細胞数は、過剰摂取群において、他の対照群（制限給餌群、ショ糖経験群）に比べて有意に少なかった。また、孤束核の *c-fos* 陽性細胞数と、ショ糖呈示から 1 時間後からの 1 時間におけるショ糖摂取量との間には負の相関関係が見られた。

ペプチド YY の腹腔内投与への孤束核の *c-fos* 陽性細胞数は、同様に過剰摂取群では、他の対照群よりも有意に少なかった。

以上の結果から、ショ糖という栄養物による消化管刺激および消化管ホルモンによる末梢刺激に反応して活性化される脳幹での内臓感覚領域のニューロン応答は、ショ糖過剰摂取を繰り返すと低下することが明らかとなった。この結果から、ショ糖過剰摂取を繰り返すと、摂取後での内臓感覚情報を脳が十分に（無意識下で）知覚することができず、内臓感覚に由来する摂食抑制系の脳機能を十分に活性化できなくなることが示唆される。さらに、その脳幹反応の低下が大きければ大きいほど、ショ糖溶液の摂取量が増大することが示唆された。すなわち、摂食抑制系の脳幹反応が低下するほど、結果として摂取量の増大が生じる可能性があることが分かった。

過剰摂取表出への効果

間歇呈示訓練の後でのポストテストでは、自由給餌下において生理食塩水投与群ではショ糖摂取は訓練前のベースライン量に比べて約 2 倍に増大した。一方、ペプチド YY を投与した群では、ポストテストにおけるショ糖摂取は生理食塩水投与群に比べて有意に少なかった（図 1 参照）。消化管ホルモンを投与された他の 6 群の全てにおいて、ポストテストでは、ショ糖摂取量はそれぞれの群での訓練前でのベースライン量と有意な違いはみられなかった（図 2 参照。ペプチド YY のデータは図より一部削除した）。つまり、3 種類の消化管ホルモンを投与されると、訓練に由来する味覚嗜好性に基づくショ糖摂取の増大は抑制された。

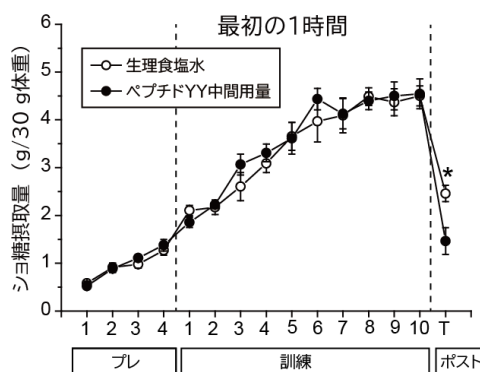


図 1. ペプチド YY による味覚嗜好性に基づく摂食の増大の抑制効果。Yamaguchi et al. (2017) より許可（許可番号 4362460252565）を取り、日本語に翻訳し、一部改訂して転載。

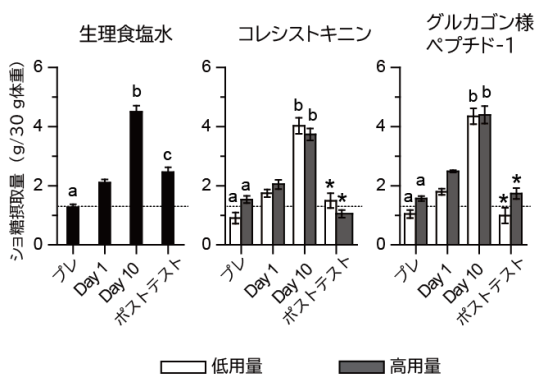


図 2. 消化管ホルモンによる味覚嗜好性に基づくショ糖摂取の増大への抑制効果。Yamaguchi et al. (2017) より許可（許可番号 4362460252565）を取り、日本語に翻訳し、一部を変更して転載。

また、それぞれの消化管ホルモンはサッカリンへの味覚嫌悪学習を形成させなかった。以上から、間歇呈示訓練に基づくショ糖過剰摂取は、味覚嗜好性に基づくショ糖への摂取動機づけを増大させるが、外因性消化管ホルモンはそれを抑制できることが示唆された。

総合成果と考察

以上の結果を総合的に考察する。マウスがショ糖過剰摂取行動を経験すると、ショ糖を

摂取しても、それに由来して分泌される消化管ホルモンの血中濃度の上昇が僅かとなり、その結果として、脳幹での内臓感覚情報を媒介する神経活動が低下すると考えられる。そのため、摂取後効果に基づく摂食抑制系機能が不十分にしか作動しないので、味覚嗜好性に基づく摂取も抑制されにくくなっていると示唆される。つまり、マウスにおいては、ショ糖過剰摂取を反復すると、摂食抑制系の機能低下が生じるために、摂食行動が抑制されず、さらに、味覚嗜好性も抑制されにくくなっているために結果として過剰摂取が生じると考えられる。このような脳腸連関および生理機序の機能変化がヒトにおける過剰摂取行動においても生じている可能性が考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

Yamaguchi, E., Yasoshima, Y., Shimura, T. (2017) Systemic administration of anorexic gut peptide hormones impairs hedonic-driven sucrose consumption in mice. *Physiology & Behavior* 171: 158–164. 査読有
doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.12.034

八十島安伸(2017) 感覚・情報・学習を介した食嗜好とその脳基盤。実験医学 35: 939-944. 査読無

〔学会発表〕(計8件)

Yasoshima, Y. and Shimura, T. Food palatability and hedonic overconsumption: the role of the brain reward system. 第38回日本神経科学学会大会 2015年7月28日~31日 神戸国際会議場(神戸市)

八十島安伸、味覚報酬による強化行動としてのショ糖過剰摂取の脳メカニズム。第36回日本肥満学会 2015年10月2日~3日 名古屋国際会議場(名古屋市)

山口恵里奈、八十島安伸、志村 剛(2015) 甘味溶液の過剰摂取を行うマウスにおけるリック行動の変化: ペプチド YY 末梢投与が与える影響。2015年度日本味と匂学会第49回大会 2015年9月24日~26日 じゅうろくプラザ(岐阜市)

山口恵里奈、八十島安伸、志村 剛(2016) マウスの過剰摂取行動の時間構造の変化: ペプチド YY と嗜好性に基づく摂取動機づけ。第93回日本生理学会大会 2016年3月22日~24日 札幌コンベンションセンター(札幌市)

Yamaguchi, E., Yasoshima, Y., Shimura, T. (2016) A gut hormone peptide YY inhibits a palatability-induced consumption of sucrose

in mice. 17th International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT 2016) 2016年6月5日~9日 パシフィコ横浜(横浜市)

八十島安伸(2016) 甘味呈味物摂取への希求と渴望に関わる脳メカニズム。第38回日本生物学的精神医学会・第59回日本神経化学会大会合同年会 2016年9月8日~10日 福岡国際会議場(福岡市)

八十島安伸(2017) 消化管ホルモンによる味覚報酬性への修飾と過剰摂取。第38回日本肥満学会 2017年10月7日~8日 大阪国際会議場(大阪市)

八十島安伸(2017) 食物のおいしさの調節への消化管ホルモンの作用。2017年度生命科学系学会合同年次大会(ConBio 2017) 2017年12月6日~9日 神戸国際会議場(神戸市)

〔図書〕(計1件)

八十島安伸(2018) 好き嫌いから「食べる」を捉え直す。シリーズ人間科学1「食べる」 大阪大学出版会

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

八十島 安伸(YASOSHIMA, Yasunobu)
大阪大学・大学院人間科学研究科・教授
研究者番号: 00273566

(2) 研究分担者

()
研究者番号：

(3)連携研究者
()
研究者番号：

(4)研究協力者
()